

令和元年6月26日現在

機関番号：12201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K07957

研究課題名(和文)イチゴの物性・光学的特性・生物的特性に基づく超高品質包装流通技術の創出

研究課題名(英文) Creation of high quality packaging and distribution technology based on physical, optical and biological properties of strawberries

研究代表者

柏寄 勝 (Kashiwazaki, Masaru)

宇都宮大学・農学部・准教授

研究者番号：00282385

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：日本産イチゴの高品質世界展開技術の開発を目指し、高品質輸出技術に資する基礎的知見を得た。イチゴ果実の果皮を破壊しない最大荷重は約0.02Nであり、100%着色果の破壊点は歪4～6%で応力約0.3N/mm<sup>2</sup>、弾性限界は歪1～3%で応力約0.2 N/mm<sup>2</sup>程度あった。イチゴ果実全体のハイパースペクトルを取得し、糖度分布の可視化技術を開発した。損傷によって発現する関連遺伝子を約8700から26にスクリーニング、さらに発現量が2倍に増加した17遺伝子を選抜し、うち2遺伝子の発現推移を詳細に把握することができた。開発した知見を効果的に用い、海外第三者品質認証機関で青果物は世界で初めて最高評価を得た。

研究成果の学術的意義や社会的意義

イチゴ果実の表皮の破壊を伴わない最大荷重、破壊を伴う物性として破壊点および弾性限界などの物性値が得られ、また17の損傷関連遺伝子をスクリーニングでき、物性観点と生物学的観点からイチゴ果実の品質劣化に取り組む可能性が期待される。さらに、イチゴ果実全体の糖度可視化技術では味のばらつき評価の可能性が期待できる。これらの知見を有効に用いると、世界で初めて入室認証評価を獲得した青果物として、高品質世界展開が可能になり、社会実装につながると考えられる。

研究成果の概要(英文)：With the aim of developing high quality global distribution technology for Japanese strawberries, we obtained basic knowledge contributing to high quality export technology. The maximum load that does not destroy the fruit skin of strawberry fruits is about 0.02 N, the breaking point of 100% colored fruits is about 0.3 N / mm<sup>2</sup> stress at 4 to 6% strain, and the elastic limit is about 0.2 N / mm<sup>2</sup> stress at 1 to 3% strain. And, we acquired hyperspectrum of whole strawberry fruit and developed visualization technology of sugar content distribution. We found 26 related genes that were expressed as a result of damage to strawberry fruits, and further selected 17 genes whose expression amount was doubled, and were able to grasp the expression transition of 2 genes in detail. We used the knowledge we obtained effectively, and for the first time in the world, the fruits and vegetables were highly rated by overseas third party quality certification organizations.

研究分野：ポストハーベスト技術

キーワード：日本産イチゴ 高品質輸出技術 高品質輸送技術 品質評価技術 物理的損傷 非破壊品詞評価技術  
第三者品質認証 損傷関連遺伝子

## 1. 研究開始当初の背景

日本産イチゴは安全・安心・良食味で世界的にも注目されており、2012年以降輸輸出量が増加し続けており、2017年には約10倍の約900トンに達した。しかし、日本産イチゴは果皮が柔らかく、輸送中の損傷や品質劣化が問題であり、対策としてイチゴ果実が熟す前の比較的硬い状態で収穫し、輸送時の品質劣化を回避してきたが、果実が未熟であるため十分に糖度または糖成分が十分に上昇しない、酸度または有機酸成分が低下していいない状態で出荷されるため、輸出先での食味低下などの問題を生じてきた。

また、イチゴ収穫時の取扱いは、作業者がイチゴに接触して収穫して収穫用コンテナに詰められ、冷蔵庫などで予冷、その後に再び作業者が手に取ってサイズや形状、着色状態、傷の有無などを判断し、1段詰めまたは2段詰め容器に整然と並べ、フィルムを展張して出荷している。つまり、出荷までの工程で作業者の手が少なくとも2回はイチゴに触れるとともに、展張フィルムによる押さえによってさらに傷みを増長させるため、日本産高品質イチゴの世界展開が阻まれている。

近年、イチゴ新品種である「あまおう」や「紅ほっぺ」、「スカイベリー」など、大型果で良食味の品種が市場に供給され、大型果良食味品種は完熟に近い状態での国内流通を意図している産地が多いが、完熟状態では果実可食部に接触しただけで外観上の品質劣化が進行し、慣行の包装容器では大型イチゴ自身の自重で自分自身や他のイチゴ果実との干渉による物理的損傷が容易に生じてしまう。つまり、現状では輸出など長距離・長時間輸送時の物理的損傷(キズ)の発生や果実表面の劣化が回避できない。さらに、1果40g以上の大粒果・大型果は、通常のイチゴ果実(1果25g以下)よりも高い商品価値を持っているにも関わらず、流通時の品質劣化を回避できないため、その高い商品価値を発揮できないでいる。

## 2. 研究の目的

本研究では、イチゴの物理的損傷が発生する表皮系組織の物理的特性、即ち表皮に垂直に作用する力に対する粘弾性、収穫時期、着色率、糖度、酸度、質量などの品質評価要因、貯蔵温度・日数、振動、衝撃などの流通品質要因、表皮系組織(表皮組織・さく状組織・海綿状組織・クチクラ層など)の植物組織の変形及び破壊の要因及び表皮系組織のスペクトルイメージを含む表面反射光の分光特性、物理的損傷によって発現した細胞壁構成多糖関連酵素遺伝子に着目した物理的損傷発生機構の解析を行う。そして、これらの成果を統合し、非破壊・非接触で物理的損傷発生難易の推定法、高品質化流通に資する包装資材・形態の新たな設計方法を開発し、イチゴの表皮系組織に劣化を生じさせない新規な高品質包装・流通技術の開発につなげる。

## 3. 研究の方法

本申請研究では、イチゴの物理的損傷のメカニズム及び品質劣化への影響を明らかにするために下記の4中課題を設定した。そして、これらの成果(情報)を統合し、イチゴの表皮に劣化を生じさせない新規な高品質包装技術の開発、物理的損傷検知システムを用いて個々のイチゴの特性に基づいて流通方式の選択が可能な超高品質流通技術を創出する。さらに、これらの研究成果を実証するために海外輸出試験を行い、品質評価の第三者認証を受け、研究成果の実用化について検討する。

### 1)イチゴ表皮系組織の物理的特性の把握

イチゴ表皮系組織の弾性限界、圧縮強さ、破壊強さや粘弾性などの物理的特性を把握し、表皮組織の圧縮破壊など物理的損傷の発生条件を解明する。イチゴの弾性限界、圧縮強さ、破壊強さの測定には小型卓上試験機(島津製作所製EZ-test)、粘弾性の測定には2軸クリーブ物性試験システム(山電製RE2-33005C)を用いた。

## 2)イチゴ流通品質要因及び品質評価要因と物理的損傷(表皮系組織の変形・破壊)との関係性把握

イチゴ流通環境における流通品質要因(貯蔵温度・日数、振動、衝撃など)、品質評価要因(収穫時期、着色率、糖組成、酸組成、3次元形状、質量など)を把握して試験条件を決め、イチゴの表皮系組織の変形や破壊を考慮した物理的損傷との関係性を把握する。この研究成果によってイチゴの包装資材・流通形態とイチゴの物理的損傷との関係を定量的に把握する。

## 3)イチゴ表皮系組織の分光特性・スペクトルイメージを用いた損傷果検査システムの開発

- 1)でイチゴ表皮系組織の物理的特性の把握、
- 2)でイチゴ流通環境における流通品質要因、品質評価要因の把握、これらの成果に基づきイチゴ表皮系組織の変形・破壊を考慮した流通時物理的損傷と表皮系組織のスペクトルイメージ・分光特性との関係を把握し、損傷果の選別システムを構築する。
- 4)イチゴに生じた物理的損傷によって生じた生物的反応と品質への影響把握

供試試料(品種:栃木 i27 号)として無損傷区と損傷区を設け、損傷区は圃場での採取後、プランジャー( $\phi 8\text{mm}$ )を取り付けた小型卓上試験機(島津製作所製 EZ-test)を用いて、クロスヘッドスピード 25mm/min、作用距離 5mm で創傷処理を行った。創傷後、6°Cのインキュベーターに暗黒条件で静置し、設定した貯蔵時間後に取り出し、損傷部位からコルクボーラ(内径 8.5mm)を用いて深さ約 5mm で遺伝子解析用サンプルを採取した。供試試料は、親株から切り離していない果実から採取したサンプルを control 区とし、創傷処理した損傷区と無損傷区を同数作成し、0.5、4 および 8 時間後に推定損傷関連遺伝子の発現量を把握した。

## 4. 研究成果

### 1)イチゴ表皮系組織の物理的特性の把握および

### 2)イチゴ流通品質要因及び品質評価要因と物理的損傷(表皮系組織の変形・破壊)との関係性把握

小型卓上試験機(島津製作所製 EZ-test)を用いて、イチゴ果実の弾性限界、圧縮強さ、破壊強さを把握した。果皮に直接プランジャーを接触させるため、 $\phi 1.8\text{mm}$  プランジャー(鉄製)を自作して用いた。測定部分は赤道部であり、等間隔で3カ所測定した。供試試料“とちおとめ”の実測例を図 1 に、結果の一例を図 2 に示す。各測定に於いて弾性限界は個体差が大きく明確でないため、独自の方法を採用した。着色が進むにつれ、大きくばらついていた各測定点収束する傾向

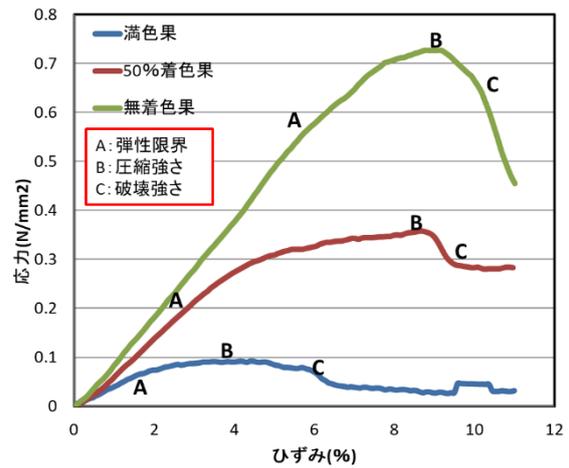


図 1 イチゴ果実の応力-歪線図の一例

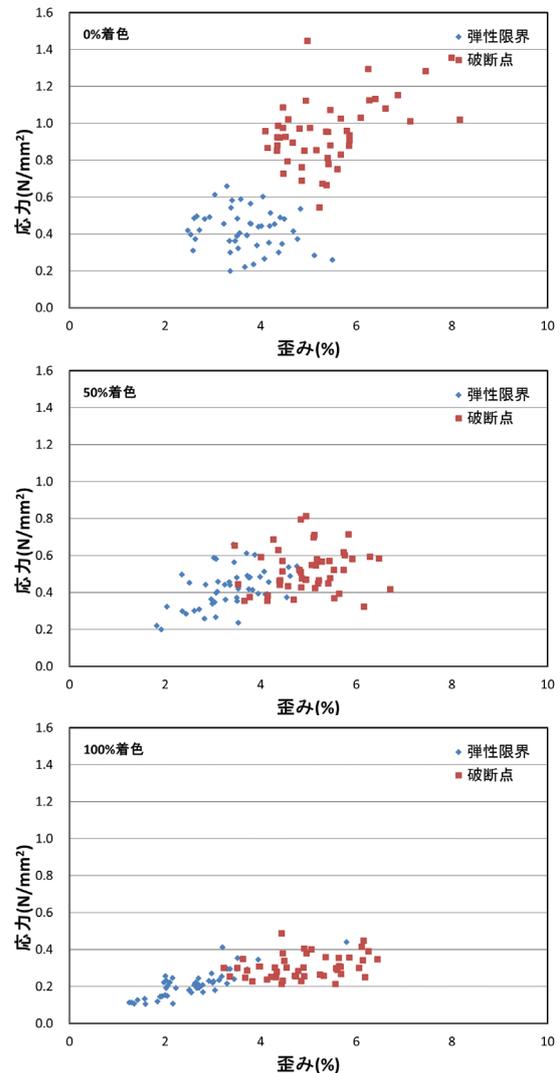


図 2 着色程度による弾性限界・破断点の分布

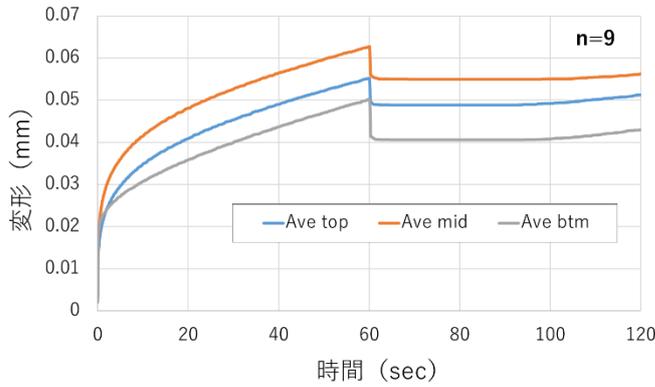


図 3 イチゴ果実部位ごとのクリープ波形の一例

材料は非接触状態を維持した満色イチゴ(品種：栃木 i27 号(高設栽培))で、イチゴ果実の先端部・赤道部・果底部、通常包装に於ける容器接触部・フィルム接触部・非接触部の各部位の試験片を切り出し、時間 - 変形曲線(クリープ波形)を得た。粘弾性解析に必要なクリープ波形を取得するためには果実の破壊を伴わない変形量の把握が必要である。先ずプランジャーをイチゴ果実に貫入させず、かつ十分な変形を測定できる最適荷重が 0.02N であることを明らかにした。イチゴ果実部位ごとに得たクリープ波形の一例を図 3 に、果実先端部の 6 要素 Voigt model の結果の一例を図 4 に示した。

さらに、6°C貯蔵中の慣行容器展張フィルム接触部の弾性係数の経時変化の一例を図 5 に示した。冷蔵貯蔵ではフィルム接触部位の弾性係数は 4 日間ほぼ変化なく、その後上昇する傾向に見えるが、個体差が大きくなるため明確な結論に至っていない。また、全体的にイチゴ果実赤道部が最も変形しやすいことが明らかになった。

### 3)イチゴ表皮系組織の分光特性・スペクトルイメージを用いた損傷果検査システムの開発

着色程度 60~100%のイチゴ果実(品種：栃木 i27 号)22 果を供試試料として、1 果実につき 6 か所糖度を測定する部位をマーキングし、ハイパースペクトルデータを測定し、平均吸光度スペクトルを算出した。マーキングした部位を抽出して糖度測定し、970nm~1347nm の範囲の吸光度スペクトルを統計ソフト R(Windows 版 ver3.4.0Pre-release)で Savitky-Golay 法により 2 次微分処理を行った。そして、糖度を目的変数、2 次微分後の吸光度を説明変数として PLS 回帰分析を行った。クロスバリデーションにより潜在変数を決定し、モデル作成データ(n=96)とモデル評価データ(n=31)を用いて決定係数及び標準誤差によりモデルの評価を行った。糖度推定モデルをイチゴのハイパースペクトルデータ 1 画素ごとに適用し、糖度の可視化画像

がみられた。100%着色果の表皮系組織の破壊点は歪 4~6%で応力約 0.3N/mm<sup>2</sup>、弾性限界は歪 1~3%で応力約 0.2 N/mm<sup>2</sup>程度あることが推定された。

さらに、イチゴ果実の粘弾性を把握し(2軸クリープ物性試験システム、山電製 RE2-33005C)、表皮組織の物理的損傷発生条件を解明する。供試

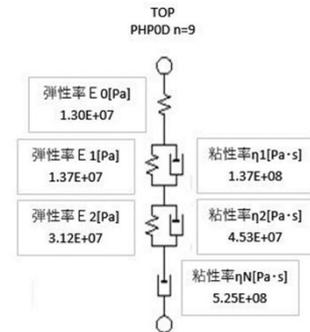


図 4 Voigt model の一例

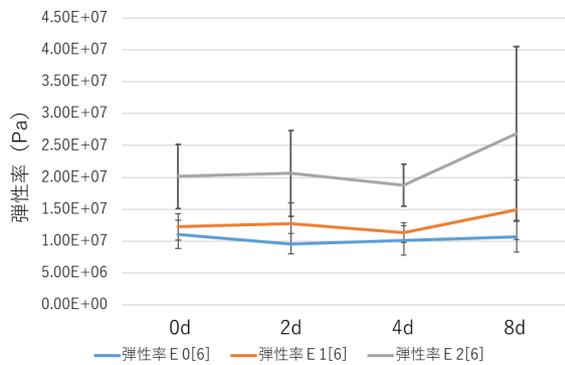


図 5 慣行容器フィルム接触部の弾性率の経時変化

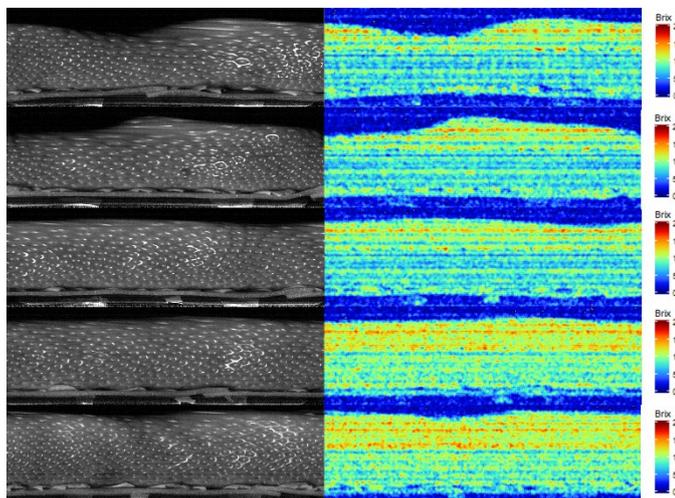


図 6 イチゴの分光画像(左)と糖度可視化画像(右)

を作成した。

結果の一例を図6に示した。PLS回帰分析による結果 モデル作成時の決定係数  $R^2$  は 0.77、標準誤差 SEC は 1.0、モデル評価時の決定係数  $R^2$  は 0.71、標準誤差 SEP は 1.2 であった。推定精度の向上が必要だが糖度の推定は可能と考えられる。糖度の可視化画像(図6)果底部から果頂部にかけて糖度が高く、糖度の高い試料と低い試料の糖度分布を把握できた。

#### 4)イチゴに生じた物理的損傷によって生じた生物的反応と品質への影響把握

本研究では、輸送等振動を与えたイチゴ果実では細胞壁構成多糖関連酵素遺伝子の発現量が有意に上昇し、その発現遺伝子(RNA)を約 8700 から 26 にスクリーニングした。さらに発現量が2倍に増加したものは、26 クローン遺伝子の中、17 クローン遺伝子で確認され、特に2つの遺伝子 Stf017G05 および Sut006H05 について考察する。Stf017G05(argininedecarboxylase-like)はアルギニンカルボキシラーゼ様遺伝子であり、アルギニン脱炭酸酵素つまりアルギニンからポリアミンの中間体であるアグマチンを生成する酵素である。

アグマチンは植物が産生する病害性抵抗物質の一種であり、悪臭の元であるプロレシジンが産生される。プロレシジンは植物が何らかのストレスを受

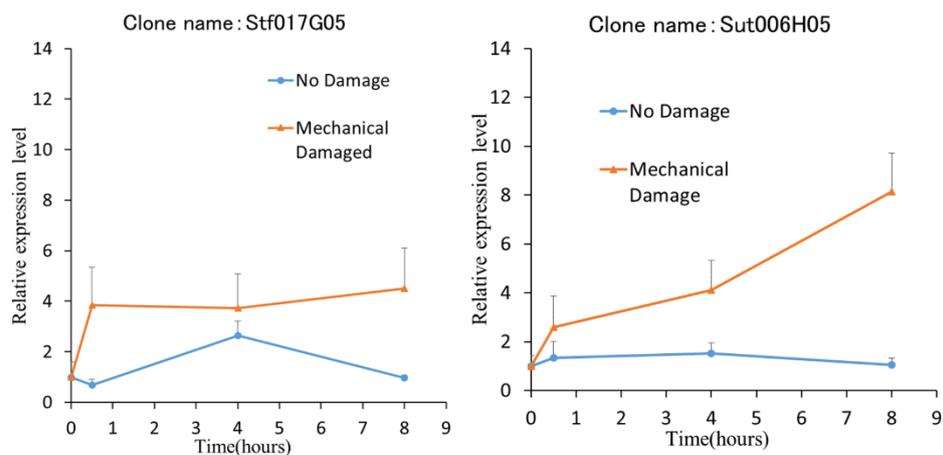


図8 注目した2種類のクローン遺伝子の発現推移

けた際に濃度が高まるという報告もあることから、創傷で発現した可能性が示唆された。また、Sut006H05(ethylene-responsive transcription factor 5-like)はエチレン応答性転写因子5様遺伝子であり、非生物学的ストレスによる防御応答、すなわち創傷によるストレス応答の可能性が考えられる。さらに、両クローン遺伝子はエチレン生合成も関わっており、物理的な損傷を受けたイチゴ果実の経時的反応に於いて上流と下流で繋がる可能性が示唆された。

以上の研究成果を総合し、日本産イチゴの輸出試験を実施するとともに海外第三者機関、すなわち国際味覚審査機



図7 第三者機関による国際的な品質認証の獲得

構(ベルギー)へ品質評価を行った。その結果、本研究当初からの3年間 Superior Taste Award を獲得し、2018年には青果物では世界で初めて Crystal Award を受賞でき、本研究の成果を実証できたと考える。

## 5. 主な発表論文等

本研究の成果を用いて産業財産権の申請の検討、外部研究資金への申請を行っているため、これらに係る研究成果の積極的な公表は控えている。なお、本研究成果を効果的に用いた外部研究資金の獲得では、国立研究開発法人科学技術振興機構(JST) 未来社会創造事業(探索加速型)の採択に繋がった(2018年11月)。

〔雑誌論文〕(計 0件)

〔学会発表〕(計 2件)

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計 0件)

○取得状況(計 0件)

〔その他〕なし

ホームページ等

## 6. 研究組織

(1)研究分担者：なし

(2)研究協力者：なし